

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 676 643 A2**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 95105182.0

(51) Int. Cl.⁵ G01N 35/00, B01L 3/14

(22) Anmeldetag: 06.04.95

(23) Priorität: 09.04.94 DE 4412286

(41) Anmelder: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH

(24) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
11.10.95 Patentblatt 95/41

D-68298 Mannheim (DE)

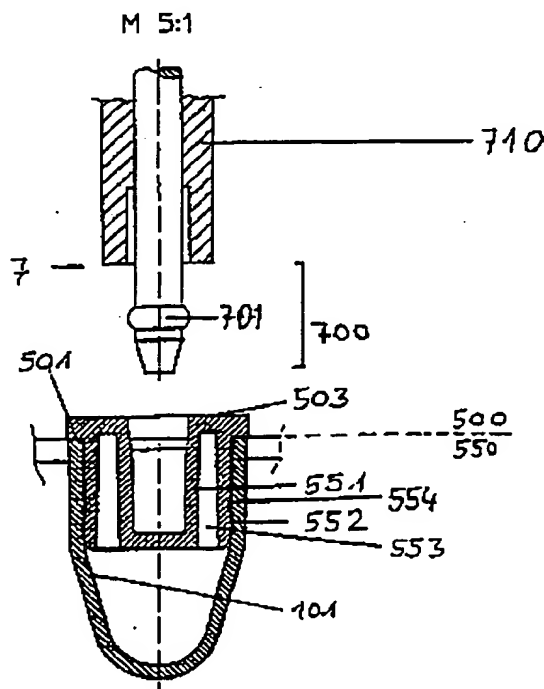
(25) Benannte Vertragsstaaten:
DE ES FR GB IT

(2) Erfinder: Blenhaus, Gerhard, Dr.
Karwendelstrasse 1
D-82407 Wietzenbach (DE)
Erfinder: Lange, Hans
Römerstrasse 99D
D-68623 Lampertheim (DE)

(14) System zur kontaminationsfreien Bearbeitung von Reaktionsabläufen.

(57) System zur automatischen Durchführung von Reaktionen unter Verwendung von mehreren Gefäßen, die durch Einzelverschlüsse verschlossen werden können, wobei eine Vorrichtung zum automatischen Öffnen der Verschlüsse vorgesehen ist.

FIG 2



EP 0 676 643 A2

Gegenstand der Erfindung ist ein System zur automatischen Durchführung von Reaktionen in Reaktionsgefäßen sowie geeignete Reaktionsgefäße und Verschlüsse.

Ein wesentlicher Baustein von Gesundheitssystemen ist der Nachweis von Erkrankungen über die sogenannte medizinische Diagnostik. Dabei werden mit Proben, die eventuell krankheitsbefallenen Personen entnommen wurden, Nachweisreaktionen auf bestimmte Analyten durchgeführt. Als geeignete Analyten haben sich Substrate von Enzymreaktionen, Enzyme selbst, Antigene und in neuerer Zeit auch Nukleinsäuren erwiesen. Dabei ist die Analyse der letztgenannten Substanzen oft deutlich erschwert, da die vorliegenden Konzentrationen manchmal sehr gering sind. Eine Voraussetzung für verlässliche Ergebnisse ist ein verschleppungsfreies Arbeiten, da geringste Konzentrationen von Störsubstanzen einen wesentlichen Einfluß auf das Meßergebnis haben. Insbesondere bei Tests, bei denen mehrere Analysen nacheinander in einem Gerät durchgeführt werden, besteht eine erhebliche Verschleppungsgefahr.

Bei der Nukleinsäurediagnostik wurde durch die Zurverfügungstellung von Amplifikationsverfahren, wie beispielsweise der Polymerase Chain Reaction (US-A-4,683,195) die Nachweisgrenze deutlich reduziert. Dafür steigt jedoch auch die Gefahr der Verfälschung des Meßergebnisses durch Kontaminationen, vor allen Dingen durch Aerosolbildung in der Luft. Aus diesem Grund wurde auch vorgeschlagen, die Vorbereitung von zu analysierenden Proben und die Amplifikation in getrennten Räumen vorzunehmen. Weitere Lösungsansätze sind Übersichten mit Öl oder Wachs sowie die Anwendung eines internen enzymatischen Dekontaminationssystems mit geringerer Sensitivität (US-A-5,035,996). Diese Lösungen sind jedoch aufwendig und für eine automatische Durchführung mehrerer Reaktionen schlecht geeignet.

Bei der Polymerase Chain Reaction werden spezielle Röhrchen verwendet, die durch konische Ausformung einen guten Wärmeübergang von einer unterliegenden Heizung ermöglichen. Darüber hinaus benutzen die meisten zur Durchführung der Thermozyklen verwendeten Geräte eine Deckelheizung (ca. 100 °C) zur Reduzierung der Verdunstung und zur Vermeidung von Kondensatbildung.

Ebenfalls beschrieben sind Platten, die mehrere Reaktionsgefäße enthalten, die über einen manuell aufreißbaren gemeinsamen Deckel verschlossen werden können. Ein Nachteil dieser Ausführung ist, daß bei der Öffnung der Platte Spritzer von einem Reaktionsgefäß in ein benachbartes gelangen können und somit die Verschleppungsgefahr verstärkt ist.

In EP-A-0 408 280 werden auch Reaktionsgefäße im offenen 96 well-Mikrotitrationsplattenformat

beschrieben. Die Kontaminationsgefahr ist hier ebenfalls sehr groß.

Alle bisher beschriebenen Lösungsansätze für Gefäße zur automatischen Abarbeitung von mehreren Reaktionen haben den Nachteil, daß die Reaktionsgefäße entweder nicht effektiv verschließbar sind, oder daß die Reaktionsgefäße Verschlusskappen haben, die nicht automatengängig sind. Diese Systeme sind daher für eine Routineanwendung mit hohem Durchsatz nur mit erheblichem Kontaminationsrisiko zu gebrauchen.

Gegenstand der Erfindung ist ein System zur automatischen Durchführung von Reaktionen in Reaktionsgefäßen, enthaltend:

- mehrere Reaktionsgefäße,
- mehrere Einzelverschlüsse für diese Reaktionsgefäße,
- eine Vorrichtung zum automatischen Öffnen der Verschlüsse und
- eine automatische Pipettiereinrichtung.

In gleicher Weise sind mit der oben genannten Technologie Proben- und Reagenzvorratsgefäße zu bedienen.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung sind geeignete Reaktionsgefäße und Verschlüsse für solche Systeme.

Das erfindungsgemäße System ist zur automatischen Durchführung von Reaktionen geeignet. Als automatisch wird in diesem Zusammenhang eine Durchführung bezeichnet, bei der manuelle Arbeitsschritte nach Einführung der Probe in das System bis zum Erhalt des Meßergebnisses vermieden werden. Die Bearbeitungsschritte laufen in vorbestimmter Weise, vorzugsweise getrennt durch ein Computerprogramm, im System ab. Das System ist außerdem zur Durchführung mehrerer aufeinanderfolgender Reaktionen, und sogar in verschiedenen Reagenzvorratsgefäßen, geeignet.

Prinzipiell kann jede Art von chemischen Reaktionen im erfindungsgemäßen System durchgeführt werden: Dazu gehören insbesondere Verfahren, die im Laufe einer Analyse von Bestandteilen einer Probe zu durchlaufen sind. Die vorkommenden Reaktionen richten sich nach der Art des zu bestimmenden Analyten. So werden beispielsweise immunologisch aktive Verbindungen üblicherweise über immunologische Nachweisverfahren bestimmt. Dabei wird die Wechselwirkung zwischen Antigenen und Haptenen einerseits und dagegen gerichteten Antikörpern andererseits genutzt. Im Falle von Nukleinsäurenachweisen wird die relativ spezifische Wechselwirkung zwischen zueinander im wesentlichen komplementären Nukleinsäuren verwendet.

Analyseverfahren für Nukleinsäuren lassen sich im wesentlichen in die Schritte Probenvorbereitung, Nukleinsäurebearbeitung und Nachweis der behandelten Nukleinsäuren einteilen. Das erfindungsgemäße System ist zur Durchführung insbesondere

der Nukleinsäurebehandlungsreaktionen ausgelegt. Zu diesen Reaktionen gehört insbesondere die Amplifikation der Nukleinsäuren. Hierfür existieren eine Reihe von Möglichkeiten. Während es isotherm geführte Amplifikationen, wie das in EP-A 0 329 822 beschriebene Verfahren gibt, werden viele andere Amplifikationen unter Durchführung von Temperaturänderungszyklen (Thermozyklen) geführt, wie beispielsweise in der EP-A-0 200 362 beschrieben.

Das erfindungsgemäße System enthält mehrere Reaktionsgefäße, die zur Aufnahme von Reaktionsflüssigkeiten geeignet sind. Das Volumen der Reaktionsflüssigkeiten liegt bevorzugt bei 5 µl bis 5 ml, besonders bevorzugt zwischen 10 µl und 200 µl. Die Reaktionsgefäße sind aus einem gegenüber der Reaktionslösung inerten Material z. B. Kunststoffen wie Polystyrol oder Polypropylen, gefertigt. Sofern die Durchführung von Thermozyklen vorgesehen wird, müssen diese Reaktionsgefäße auch thermostabil sein. Die üblicherweise verwendeten PCR-Tubes von Perkin Elmer sind beispielsweise als Reaktionsgefäße der vorliegenden Erfindung gut geeignet.

Ein wesentliches Merkmal der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von Einzelverschlüssen für diese Reaktionsgefäße. Der Einzelverschluß von Reaktionsgefäßen wurde bisher nicht in Betracht gezogen, möglicherweise dadurch unterstützt, daß die Konstrukteure von Tube-Verbund-Platten auf die Verwendung von Verbunddeckeln als besonders geeignet fixiert waren. Darüber hinaus stellt die Verwendung von Einzelverschlüssen eine technische Herausforderung dar, die durch die erfindungsgemäßen Einzelverschlüsse bewältigt wird. Die Verschlüsse sind, wie die Gefäße, bevorzugt aus einem bevorzugt thermostabilen Material, z. B. Polystyrol, Polypropylen, besonders bevorzugt nach bekannter Spritzgußtechnik hergestellt.

Reaktionen, die in dem Reaktionsgefäß durchgeführt werden können, können physikalischer Art (z.B. Adsorptionen), aber auch biochemischer Art (z.B. Enzymreaktionen, Amplifikationen etc.) sein.

Ebenfalls wesentlich für das erfindungsgemäße System ist eine Vorrichtung zum automatischen Öffnen der Verschlüsse. Diese Vorrichtung ist technisch auf den jeweils verwendeten Einzelverschluß ausgerichtet.

Zur automatischen Durchführung der Reaktionen werden Flüssigkeiten in das Reaktionsgefäß gefüllt werden. Hierzu hat sich die Verwendung einer automatischen Pipettiereinrichtung, bevorzugt mit Wegwerfspitzen, als besonders vorteilhaft herausgestellt. Dabei können die Komponenten der durchzuführenden Reaktionen in beliebiger geeigneter Reihenfolge pipettiert werden. Es ist beispielsweise möglich, zunächst eine den Analyten enthaltende Probenflüssigkeit in das Reagenzvor-

ratsgefäß zu bringen. Dies kann gewünschtenfalls schon außerhalb des erfindungsgemäßen Systems und ohne die automatische Pipettiereinrichtung geschehen. In einem nachfolgenden Schritt, der gewünschtenfalls mittels der automatischen Pipettiereinrichtung vorgenommen werden kann, werden die für die Reaktion erforderlichen Reagenzien zu der Probenflüssigkeit im Reagenzvorratsgefäß gegeben, wobei das erfindungsgemäße Verfahren ebenfalls Anwendung finden kann.

In einer anderen Ausführungsform sind die erforderlichen Reagenzien in fester oder flüssiger Form im Reaktionsgefäß vorgegeben, und die Probenflüssigkeit wird dazupipettiert.

Im folgenden wird ein System zur automatischen Durchführung von Reaktionen in einer Verbundplatte mit 96 Wells im Mikrotitrationsplattenraster beschrieben, wobei dies eine besonders bevorzugte Ausführungsform der Anordnung mehrerer Reaktionsgefäße ist. Dieses System eignet sich besonders gut für die Durchführung der Polymerase Chain Reaction unter Durchführung von Thermozyklen. In Figur 1 ist eine Verbundplatte für das Gerät Perkin Elmer Cycler 9600 angedeutet. Ein Reaktionsgefäß 1 ist als in einem der Löcher 3 einer Halteplatte 2 für 96 Tubes befindlich gezeichnet. Das Reaktionsgefäß ist durch Widerhaken 102 in der Halteplatte fixiert. Sobald die Verbundplatte mit den Reaktionsgefäßen in den PCR-Cycler eingelegt wird, reichen die Spitzen der Reaktionsgefäße in den Thermoblock 4 des Cyclers hinein. In dieser Figur ist schematisch ein für die Erfindung geeigneter Deckel 5 eingezeichnet. Zum Verschluß des Reaktionsgefäßes wird der Deckel 5 in das Reaktionsgefäß 1 bis zu einem Anschlag 501 hineingedrückt.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung ist ein Deckel für ein Reaktionsgefäß, welcher einen in die Öffnung des Reaktionsgefäßes hineinragenden Teil aufweist, dadurch gekennzeichnet, daß dieser Teil Mittel zur Entfernung des Deckels aus dem Reaktionsgefäß beinhaltet.

Der erfindungsgemäße Deckel weist mindestens zwei Teile auf. Einer der Teile (Bezugszahl 550) ist so gestaltet, daß er in die Öffnung des zugehörigen Reaktionsgefäßes hineinragt, wenn das Reaktionsgefäß durch den Deckel verschlossen ist. Ein anderer Teil 500 ragt dann noch aus dem Reaktionsgefäß hinaus.

Der Teil 550 enthält Mittel 551 zur Entfernung des Deckels von dem Reaktionsgefäß. Außerdem kann dieser Teil Mittel zur Abdichtung des Deckels gegenüber dem Reaktionsgefäß aufweisen, z. B. Dichtlippen oder Dichtwülste 552.

Der Teil 500 enthält bevorzugt einen Anschlag 501, der verhindert, daß der Deckel in beim Verschließen des Reaktionsgefäßes vollständig in diesem verschwindet. Dadurch wird auch eine exakte

Orientierung der Deckeloberfläche 503 gewährleistet. Der Teil 500 des Deckels ragt bevorzugt nur sehr wenig über die Öffnung des Reaktionsgefäßes hinaus. Die aus dem Reaktionsgefäß herausragenden Teile des Deckels schließen im wesentlichen mit einer Oberfläche 503 ab. Dies ist von Vorteil, wenn eine Deckelheizung zur Vermeidung der Kondensation von Wasserdampf aus der Reaktionsflüssigkeit am Deckel verwendet werden soll. Diese kann dann plan auf den Oberflächen 503 mehrerer Reaktionsgefäße aufliegen.

Als Mittel 551 zur Entfernung des Deckels können alle konstruktiven Ausführungen dienen, die bewirken, daß der Widerstand zwischen der Vorrichtung zum automatischen Entfernen des Deckels und dem Deckel größer ist als der Widerstand zwischen dem Deckel und der Innenwand des Reaktionsgefäßes. Technische Ausführungsmöglichkeiten bieten sich beispielsweise durch Einsatz konischer Flächen oder Wülste zum Einrasten einer Vorrichtung im Teil 550.

In Figur 2 ist eine erste Ausführungsform für einen erfindungsgemäßen Deckel (im Zustand eines verschlossenen Reaktionsgefäßes) sowie eine geeignete Öffnungsvorrichtung 7 gezeigt. Die Mittel zur Entfernung des Deckels sind hier als konisch geformte Ausnehmung 551 ausgestaltet, welche gegenüber dem Reaktionsgefäß geschlossen, jedoch zur Umgebung hin geöffnet ist, um den Entnahmedorn 700 der Vorrichtung zum Entfernen des Deckels aufnehmen zu können. Gegen die Innenwand 101 des Reaktionsgefäßes drückt hierbei ein Bauteil, welches einen rundum laufenden Dichtungswulst 552 aufweist. Ein besonders vorteilhaftes konstruktives Detail des erfindungsgemäßen Deckels ist die konstruktive Trennung der Mittel 551 von der Dichtungslippe 552 vor, so daß der bei Einführen des Entnahmedorns in den Teil 550 auf die Mittel ausgeübte Druck nicht zu einer wesentlichen Erhöhung des Druckes auf die Dichtlippe führt. Dadurch wird eine starke Erhöhung des festen Sitzes des Deckels bei Einführung des Entnahmedorns 700 vermieden. Die konstruktive Trennung findet in Figur 2 durch das Vorsehen eines Zwischenraumes 553 zwischen den Mitteln 551 und der Dichtlippe 552 statt. In Figur 2 ist dieser Zwischenraum in Richtung auf den Innenraum des Reaktionsgefäßes offen. Da die Oberfläche 503 des Deckels im vorliegenden Fall relativ groß ist, ist die Auflagefläche einer Deckelheizung und der Wärmeübergang von der Heizung auf den Deckel besonders groß ist.

In Figur 3 ist ein besonders vorteilhafter Deckel gezeigt. Er unterscheidet sich im wesentlichen dadurch von dem in Figur 2 gezeigten Deckel, daß der Zwischenraum 553 nicht in Richtung auf das Reaktionsgefäß, sondern in Richtung auf die Umgebung offen gestattet ist. Diese Ausführungsform

hat den Vorteil, daß die Kontaktfläche des Deckels zur Reaktionslösung bzw. dem Überstehend n Gasraum klein ist, so daß für eine eventuelle Kondensation von Flüssigkeit an den Deckel nur wenig Oberfläche zur Verfügung steht.

In Figur 4 ist ein Deckel abgebildet, bei dem kein Zwischenraum 553 vorgesehen ist. Dieser Deckel ist zwar für das erfindungsgemäße System ebenfalls brauchbar, jedoch mit dem Nachteil, daß das Einführen des Entnahmedorns den Druck auf die Reagenzvorratsgefäßinnenwand erhöht und somit eine höhere Kraft zur Entfernung des Deckels von dem Reaktionsgefäß erforderlich wird, als in den oben beschriebenen Fällen.

Die Vorrichtung zum automatischen Öffnen der Verschlüsse ist auf die Form der Mittel zur Entfernung des Deckels im Deckel abgestimmt. Als besonders vorteilhaft haben sich Dorne erwiesen, die einen Entnahmewulst 701 aufweisen, der über einen entsprechenden Widerstand des Deckels in den Teil 550 hineingedrückt werden muß. Beim Zurückziehen des Dorns wirkt der Wulst als Widerstand. Dadurch, daß der Druck des Deckels auf die Reaktionsgefäßinnenwand kleiner ist als der Widerstand des Wulstes mit dem Deckel, wird der Deckel aus dem Reaktionsgefäß entfernt.

Damit der Entnahmedorn 7 mehrfach verwendet werden kann, enthält die Vorrichtung bevorzugterweise auch ein Bauteil zum Abstreifen des vom Reaktionsgefäß entfernten Deckels vom Entnahmedorn. Dies kann beispielsweise eine Abstreiferhülse 702 sein.

Die Vorrichtung ist für die Bearbeitung von Proben in Reaktionsgefäßen auf die Anordnung der Reaktionsgefäße ausgerichtet. Im Falle einer Verwendung einer Verbundplatte befindet sich die Vorrichtung daher an einer X-Y Transporteinheit, mit der die Vorrichtung über das jeweilige Reaktionsgefäß gefahren werden kann. Durch Bewegung des Entnahmedorns 700 auf die verschlossenen Reaktionsgefäße zu (Z-Richtung), wird die Spitze des Entnahmedorns in den Deckel eingeführt. Diese Bewegung wird im allgemeinen senkrecht zu der Transportebene sein. Obwohl die beiden Bewegungsvorgänge prinzipiell durch jeden computergesteuerten Roboter ausführbar sind, ist es auch möglich, übliche Pipettierautomaten z.B. von Tecan durch Ersatz der üblicherweise verwendeten Zahnstange zum Pipettieren durch eine Zahnstange mit einer Vorrichtung 7, umzurüsten. Es ist auch möglich, die Vorrichtung zum automatischen Öffnen des Deckels zusätzlich zur Pipettiereinheit an einer Zahnstange eines Pipettierautomaten zu befestigen. Der Pipettierautomat wird entsprechend programmiert.

Zur parallelen Bearbeitung mehrerer Reaktionsgefäße, z. B. einer Reihe einer Mikrotitrationsplatte, können mehrere Vorrichtungen 7 an einer Trans-

porteinheit angebracht werden, so daß mehrere Einzeldeckel parallel geöffnet werden können. Diese Ausführungsform erscheint im Hinblick auf die Vermeidung von Kontaminationen jedoch nicht bevorzugt.

Die vorliegende Erfindung, insbesondere der automatengängige Deckel, ist nicht nur für Reaktionsgefäße verwendbar, sondern für jede Art von Gefäßen in einem System zur Durchführung mehrerer Reaktionen. Dazu gehören neben den Gefäßen in denen eine Reaktion zwischen mehreren Reaktionspartnern abläuft, und welche hier Reaktionsgefäße genannt werden, auch Gefäße, in denen die einzelnen Reaktionspartner der gewünschten Reaktion vorgehalten werden. Im Falle der Analytik von flüssigen Proben kann hier zwischen Probengefäßen und Reagenzvorratsgefäßen unterschieden werden. In einem Probengefäß wird eine Flüssigkeit, die auf das Vorhandensein bzw. die Menge eines oder mehrerer Analyten untersucht werden soll, vorgehalten. Die Probenflüssigkeit wird nach Probennahme (z.B. Gewinnung von Blut eines Patienten, der untersucht werden soll) und evtl. Aufarbeitung (Gewinnung von Plasma oder Serum) in ein Probengefäß überführt und gewünschtenfalls mit einem erfindungsgemäßen automatengängigen Deckel verschlossen. Dann wird das Probengefäß einzeln oder zusammen mit weiteren Probengefäßen in das System, z.B. einen automatischen Analysenautomaten, eingeführt. Zum Ablauf eines erfindungsgemäßen Verfahrens wird, bevor eine Überführung von Probenflüssigkeit aus dem Probengefäß in ein Reaktionsgefäß vorgenommen werden soll, der Deckel vom Probengefäß entfernt und die gewünschte Menge der Probenflüssigkeit entnommen. Ein Vorteil des erfindungsgemäßen Systems, bei dem auch die Probengefäße mittels eines automatengängigen Deckels verschlossen sind, ist die Möglichkeit des einfachen Wiederverschlusses des Probengefäßes mittels des selben oder eines neuen Deckels. Für den bevorzugten Fall des Wiederverschlusses mit einem neuen Deckel wird der alte Deckel vom Entnahmedorn durch die Abstreiferhülse in ein Abfallgefäß überführt und ein neuer Deckel aus einem Vorratsgefäß für Deckel auf den Entnahmedorn aufgezogen. Der neue Deckel wird daraufhin auf das Probengefäß aufgesetzt und der Entnahmedorn entfernt, wobei der Deckel auf dem Probengefäß verbleibt. Für eine weitere Bestimmung eines weiteren Analyten aus der selben Probe wird der Deckel erneut entfernt und wiederum eine bestimmte Menge der Probenflüssigkeit entnommen. Wenn der Deckel ein Septum beinhaltet, kann eine Probenentnahme aus dem Probengefäß auch ohne Entfernen des Deckels mit einer Stechpipette vorgenommen werden.

Bei der Abarbeitung von Reaktionen kann es erforderlich sein, weitere Reagenzien in das Reak-

tionsgefäß zu überführen. Diese werden in Reagenzvorratsgefäßen vorgehalten, die ebenfalls erfindungsgemäß verschlossen und geöffnet werden können. Unter einem Reagenzvorratsgefäß ist daher ein Vorratsgefäß für Reagenzien zu verstehen, wobei diese Reagenzien bei der Durchführung von Reaktionen in Reaktionsgefäßen verwendet werden. Da die Reagenzien in der Regel in größeren Mengen, z.B. für die Durchführung mehrerer Reaktionen, bereitgehalten werden müssen, haben diese Reagenzvorratsgefäße oft die Form von Flaschen mit Volumina zwischen 20 und 500 ml. Auch solche Reagenzvorratsgefäße können durch einen automatengängigen Deckel gemäß der Erfindung geschlossen sein. Dies wird in der Regel herstellertseitig geschehen. Der Kunde setzt das Reagenzvorratsgefäß in eine geeignete Position des Systems ein. Sobald in einem Reaktionsgefäß eine Reaktion durchgeführt werden soll, welche die Verwendung des in dem bestimmten Reagenzvorratsgefäß vorgehaltenen Reagenzes erfordert, wird der automatengängige Deckel von dem Reagenzvorratsgefäß entfernt und die erforderliche Menge Reagenz entnommen und ins Reaktionsgefäß überführt. Anschließend kann das Reagenzvorratsgefäß durch den abgenommenen oder einen neuen Deckel (siehe Probengefäß) wieder verschlossen werden.

Für den Fall von großvolumigen Reagenzvorratsgefäßen können prinzipiell die bisher verwendeten Reagenzvorratsgefäße weiterverwendet werden, wenn die üblicherweise verwendeten Schraubdeckel durch Einsatz des erfindungsgemäßen automatengängigen Deckels modifiziert werden. Dazu wird bevorzugt an der Oberseite des Schraubdeckels eine kleine Öffnung vorgesehen, welche dann mit einem erfindungsgemäßen Deckel verschlossen wird. Dieses System hat den Vorteil, daß das Reagenzvorratsgefäß durch eine relativ große, durch den Schraubdeckel verschlossene Öffnung befüllt werden kann, jedoch die Entnahme von Reagenzflüssigkeit durch die relativ kleine, erfindungsgemäß verschlossene Öffnung vorgenommen werden kann.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur automatischen Durchführung von chemischen Reaktionen in Reaktionsgefäßen, gekennzeichnet durch die Schritte:

- Zurverfügungstellen von Reaktionsgemischen in Reagenz- und/oder Reaktionsgefäßen
- Verschuß der Reaktionsgefäße durch Einzelverschlüsse und
- automatisches Öffnen der Einzelverschlüsse mittels einer Vorrichtung zum Entfernen des Deckels von den Gefäßen.

Das Verfahren läuft prinzipiell ähnlich ab wie die bisher bekannten manuellen Verfahren, jedoch unter Verwendung eines automatengängigen Dek-

kels und in einem System. Selbstverständlich können die automatengängigen Deckel auch manuell geöffnet und verschlossen werden. Zentrales Merkmal ist die Zurverfügungstellung von Reaktionsgefäßen, die eine Reaktionsmischung enthalten und die mittels eines automatengängigen Deckels verschlossen sind. Dies gilt besonders für Reaktionen, welche in Thermozyklen verlaufen. Nach Beendigung der Reaktion wird der Deckel mit Hilfe einer Vorrichtung zum Entfernen des Deckels vom Reaktionsgefäß gelöst. Dies geschieht durch Einführen der Vorrichtung in die im Deckel vorgesehenen Mittel und Herausziehen der Vorrichtung mitsamt dem Deckel. Der Deckel kann anschließend durch Zurückziehen des Entnahmedorns in eine Abstreiferhülse vom Entnahmedorn abgestreift werden. Danach kann die Reaktionsmischung aus dem Reaktionsgefäß entnommen oder darin weiterverarbeitet und gewünschtenfalls sogar wieder mittels eines (neuen) Deckels verschlossen werden.

Vorteil des erfindungsgemäßen Deckels ist die Verwendbarkeit einer Deckelheizung aufgrund der besonders einfachen Möglichkeit, eine flache Oberfläche vorzusehen. Durch die Verlagerung der Mittel zum Öffnen des Deckels in den Raum unterhalb des Gefäßes wird Material gespart und eine kompakte Bauweise ermöglicht. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit, den Gasraum über der Reaktionslösung durch die in das Reaktionsgefäß hineinragenden Teile des Deckels so klein wie möglich zu halten: Dieser Vorteil hat zur Folge, daß die Höhe der Wandungen des Reaktionsgefäßes nicht verringert werden muß, was im Hinblick auf Spritzmöglichkeiten bei Pipettiervorgängen nachteilig wäre. Die Automatengängigkeit des erfindungsgemäßen Deckels erleichtert die Vollautomatisierbarkeit von Systemen zum Nachweis von Analyten in Flüssigkeiten.

Die Erfindung kann insbesondere für die Analyse von Bestandteilen von Körperflüssigkeiten nach Prinzip von Immunoassays oder Nukleinsäurediagnostik angewendet werden. Wegen der oben genannten Vorteile ist die Anwendung beim Nachweis von Nukleinsäuren besonders bevorzugt. Nachweisverfahren für Nukleinsäuren können als Schritte zur Bearbeitung die Amplifikation von Nukleinsäuren in einer Flüssigkeit, z.B. nach Art der Polymerasekettenreaktion (EP-B-0 200 362) oder eines anderen Systems beinhalten. Auch die Durchführung von daran angeschlossenen Hybridisierungsreaktionen mit Nachweissonden kann in den erfindungsgemäßen Reaktionsgefäßen durchgeführt werden. Hierbei ist auch die mehrfache Öffnung des Reaktionsgefäßes mit Hilfe eines erfindungsgemäßen Deckels möglich.

In Figur 1 ist eine Verbundplatte mit Reaktionsgefäß 1, Thermoblock 4 und erfindungsgemäßen Deckel gezeigt.

In Figur 2 bis 4 sind Deckel zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens in Zusammenschau mit geeigneter Entnahmevorrichtung und Reaktionsgefäß gezeigt.

In Figur 5 ist ein erfindungsgemäßes System zur Durchführung von Reaktionen gezeigt. Dabei ist eine Verbundplatte mit Reaktionsgefäßen und Deckeln mit Bezugszeichen 010 angedeutet. Es können Reagenzvorratsbehälter 011, 012 und 013 sowie mehrere Probenprimärgefäße 014, 015 und 016 vorgesehen sein, aus denen die für die Reaktion erforderlichen Mengen von der Pipettiereinheit 017 entnommen und in die Reaktionsgefäße 5 pipettiert werden. Nach Verschuß der Reaktionsgefäße, der gewünschtenfalls ebenfalls mit der Entnahmevorrichtung 7 vorgenommen werden kann, Reaktion und Öffnen des Deckels mit der Entnahmevorrichtung, können weitere Reagenzien zupipettiert werden. Gewünschtenfalls wird dann eine Messung von Signalen entweder im Reaktionsgefäß selbst oder nach Entfernen der Reaktionsmischung in eine Messeinheit vorgenommen. In der Figur ist die Zahnstange 018 der XYZ-Transporteinheit eines üblichen Pipettierautomaten (z. B. der Firma Tecan) angedeutet.

Die erwähnte Kontaminationsgefahr kann sich auch auf Reagenzien beziehen, die offen auf einem Gerät stehen. Figur 6 zeigt eine erfindungsgemäße Ausführung eines Schraubdeckels, der sich mit gängigen Maschinen in der Produktion verarbeiten läßt und anschließend systemgängig ist. Der Schraubdeckel 8 weist ein Schraubgewinde 801 und eine Entnahmeöffnung 802 auf welche mit Hilfe eines erfindungsgemäßen Deckels verschlossen oder geöffnet werden kann.

Analog gilt für die Proben, die in eine Ausführungsform mit Septum direkt nach Blutentnahme in ein spezielles Probenröhrchen mittels Spritze überführt werden können. In Figur 7 ist hierzu ein modifizierter erfindungsgemäßer Deckel gezeigt. Er weist ein Septum 555 auf, welches mittels einer üblichen Pipettennadel durchstoßen werden kann. Der Vorteil dieser Ausführungsform ist die Möglichkeit einer mehrfachen Probenentnahme, ohne daß der erfindungsgemäße Deckel entfernt werden muß. Das Septum befindet sich bevorzugt in dem in das Probengefäß hineinragenden Teil des Deckels.

In Figur 8 ist eine Rasteinheit für eine Entnahmevorrichtung gezeigt. Diese wird über ein Druckstück 2101 bedient, welches zusammen mit dem Rastelement 2103 durch eine Abdrückfeder 2106 um einen Druckstift 2105 in einer Ausgangsstellung gehalten wird. Das Rastelement 2103 läuft hierbei in einer Rasthülse 2102 und der Druckstift 2105 in einer Abdrückhülse 2104.

Diese Rasteinheit kann sowohl manuell als auch innerhalb eines Systems zur Entnahme von

Deckeln verwendet werden. Bevorzugt ist das Rastelement in einer äußeren Hülse 2002 gehalten, welche in Figur 9 gezeigt ist. Die Rasteinheit mit dem Bezugszeichen 2100 gekennzeichnet.

In Figur 10 ist ein manuelles Entnahmegesetz 6 gezeigt. Es enthält als einen Teil eine Vorrichtung zum Entfernen des Deckels bzw. zum Anbringen des Deckels und als einen zweiten Teil eine Vorrichtung zum Pipettieren einer Flüssigkeit.

In Figur 11 sind Stufen A bis F zur Entfernung eines Deckels von einem Gefäß gezeigt. Stufe A zeigt die Ausgangsstellung des Entnahmeteils und ein mittels eines erfindungsgemäßen Deckels verschlossenes Gefäß. In Stufe B wird das Entnahmeelement auf die Baueinheit, welche das Gefäß enthält, aufgesetzt. In Stufe C wird der Entnahmedorn in den Teil 550 des Deckels eingeführt. Durch Zurückziehen des Entnahmedorns um eine kurze Wegstrecke, rastet der Entnahmedorn an der vorgesehenen Engstelle ein (Stufe D). Durch weiteres Zurückziehen des Entnahmedorns zusammen mit der Abstreifhülse wird der Deckel von dem Gefäß entfernt (Stufe E). In Stufe F wird die Entnahmeeinheit von der Baueinheit mit dem Reaktionsgefäß abgehoben. In einer nicht gezeigten weiteren Stufe G wird der Deckel durch Verschieben der Abstreifhülse über den Entnahmewulst hinaus abgestreift. Danach steht die Entnahmeeinheit wieder in Ausgangsstellung oder kann in die Ausgangsstellung (Stufe A) zurücküberführt werden.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung ist eine Vorrichtung zur Bearbeitung einer Flüssigkeit, die sich in einem verschlossenen oder verschließbaren Gefäß befindet, enthaltend eine Vorrichtung zum Pipettieren der Flüssigkeit und eine Vorrichtung zum Entfernen oder/und Anbringen eines Verschlusses des Gefäßes. Als eine Vorrichtung zum Pipettieren der Flüssigkeit kann einerseits eine kommerziell erhältliche Kolbenhubpipette (z. B. Firma Eppendorf, BRD) eingesetzt werden. An dieser Pipette ist, bevorzugt in der Nähe des Handgriffes, ein Deckelhandler angebracht. Dieser wirkt bevorzugt durch Druck der Gesamtvorrichtung auf ein verschlossenes Gefäß, wenn der Deckel entfernt werden soll bzw. durch Druck auf ein nicht verschlossenes Gefäß, wenn das Gefäß mit Hilfe eines Verschlusses verschlossen werden soll. Als besonders wirksam haben sich die erfindungsgemäßen Deckel erwiesen.

Für den Fall einer automatischen Bearbeitung von Flüssigkeiten kann der Deckelhandler an einem X-, Y-, Z-Arm eines Roboters (Tecan) oder eines zylindrisch angeordneten Roboterarms (z. B. von der Firma Zymark) angebracht sein. Außerdem ist es möglich, den Deckelhandler in mehrfacher Ausführung, z. B. in 8fach oder 12fach nebeneinander positionierter Weise einzusetzen. Der Deckelhandler kann in einer anderen Ausführungsform auch an

einem Arm eines konventionellen Mikrotiterplattenwaschers (auch dieser führt X-, Y-, Z-Bewegungen aus) befestigt sein. Des weiteren kann der erfindungsgemäße Deckelhandler auch mit einem Thermocycler zur Durchführung thermostatischer Reaktionen, wie z. B. der Polymerasekettenreaktion, befestigt sein, so daß hiermit eine koordinierte Entfernung von Deckeln von Gefäßen, in welche Reagenzien eingeführt werden sollen, möglich ist. Es ist außerdem möglich, den erfindungsgemäßen Deckelhandler mit Magnetseparatoren, Heizblöcken oder Wasserbädern zu kombinieren. Alle diese Geräte sind bei der Bearbeitung von Flüssigkeiten von Nutzen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine Vorrichtung zum Ergreifen eines Gefäßdeckels, enthaltend ein Bauteil (700), welches in den Innenraum des Deckels eingreift und sich in diesem festklemmt, und ein Bauteil (710), mit dem der ergriffene Deckel von dem Bauteil, welches in diesem festgeklemmt ist, abgestreift werden kann. Bevorzugt enthält diese Vorrichtung einen Rastmechanismus, welcher, z. B. in Art eines Kugelschreibermechanismus, allein durch Ausüben von Druck auf die Vorrichtung, eine vorbestimmte Abfolge von Rastpositionen abfahren kann. Besonders bevorzugt ist der Fall, daß der Druck auf die äußere Hülle der Vorrichtung ausgeübt wird.

30 Beispiel 1

Am Beispiel des Ablaufschemas einer Amplifikationsreaktion wird ein mögliches Protokoll für das Zusammenspiel des Laborroboters mit den Gegenständen der Erfindung dargestellt. Das Zusammenspiel aller Elemente ermöglicht eine automatische Durchführung des Reaktionsablaufes.

Die vorgeschalteten Schritte zur Gewinnung der analytischen Probe aus körpereigenen Flüssigkeiten (z. B. Blut) geschehen nach allgemein üblichen Verfahren und werden daher nicht beschrieben. Zu Beginn des Ablaufes der automatischen Amplifikationsdurchführung wird daher von einem Analyten in einer Probenflüssigkeit (in diesem Fall von gereinigter Nukleinsäure aus einer Blutprobe) ausgegangen, welcher in einem erfindungsgemäßen Reaktionsgefäß mit Einzelverschluß vorliegt.

Das System zur kontaminationsfreien Bearbeitung von Reaktionsabläufen enthält ferner:

- einen Laborroboter der Firma Tecan (Typ RSP9652SLD)
Arm 1 enthält die automatische Pipettiereinheit (017)
- einen Thermocycler der Firma Perkin Elmer mit einer Verbundplatte (2) mit Reaktionsge-

fäßen (1) incl. Einzelverschlüsse (5), die Verbundplatte besteht aus einer Halteplatte mit Ausnehmungen für die Aufnahme der Reaktionsgefäße und einem darunter angeordneten Thermoblock (4), der ebenfalls entsprechende Ausnehmungen hat.

Auf der Laborroboter-Plattform befinden sich die notwendigen Reagenzgefäße, die verschlossene Probe mit dem Analyten für die Amplifikationsreaktion, die Meßzellen bzw. die Aufbewahrungsgefäße, Wastebehälter und die Pipettenspitzenaufnahme mit Pipetten. Alle Gefäße sind mit Einzelverschlüssen verschlossen und werden vor Gebrauch geöffnet.

Das nachfolgende Ablaufschema geht davon aus, daß alle Einheiten, Gefäße, Elemente und Substanzen betriebsbereit vorliegen und ein erneuter Start einer Amplifikationsreaktion ansteht. Als "Stand-by"-Stellung des Armes wird eine definierte Stellung auf der Laborroboter-Plattform bezeichnet, die sich außerhalb des Gefäßbereiches befindet und einen weiteren Zugriff des anderen Arms auf das gleiche Gefäß erlaubt. Für jeden der beiden Arme gibt es eine eigene "Stand-by"-Stellung.

Ablaufschema

Schritt Aktionen

Start des Ablaufschemas

1 Arm 1 mit Pipettiereinheit führt von der Ausgangsstellung zur Pipettenspitzenaufnahme und bestückt die Einheit mit einer neuen Pipettenspitze,

2 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmevorrichtung (7) fährt von der Ausgangsstellung zum Probegefäß mit dem Analyten (014),

3 Öffnungs- und Entnahmevorrichtungsablauf (Arm 2),

Vorrichtung fährt in Ausgangsstellung,

Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Dekkeloberfläche,

Einführung des Entnahmedorns (700) in das Deckelinnere,

Einpressen des Entnahmedorns durch Anheben der Entnahmevorrichtung (7),

Entfernen des Deckels vom Gefäß

Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Reaktionsgefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Stellung.

4 Arm 1 mit Pipettiereinheit und Pipettenspitze fährt von der Pipettenspitzenaufnahme zum Probegefäß des Analyten,

5 Probeentnahmeablauf (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze, Ansaugen der Probeflüssigkeit in die Spitze,

Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probeflüssigkeit,

6 Arm 1 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probeflüssigkeit fährt neben die Öffnung des Amplifikationsgefäßes in "Stand-by"-Stellung

7 Arm 2 mit Deckel fährt zum Probegefäß der Analytenöffnung

8 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung,

Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung,

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt zur "Stand-by"-Stellung.

9 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmevorrichtung fährt von der "Stand-by"-Stellung zum Reaktionsgefäß (1) (Amplifikationsgefäß) in definierter Position auf der Verbundplatte

10 Öffnungs- und Entnahmevorrichtungsablauf (Arm 2)

Vorrichtung (7) fährt in Ausgangsstellung,

Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Dekkeloberfläche eines Reaktionsgefäßes (1),

Einführung des Entnahmedorns in das Deckelinnere,

25

Einpressen des Entnahmedorns,

Entfernen des Deckels vom Gefäß,

Abheben der Öffnungs- und Entnahmeeinheit mit Deckel vom Gefäß,

30 Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Gefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Stellung

11 Arm 1 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probeflüssigkeit fährt von der "Stand-by"-Stellung zur Reaktionsgefäß (1) (Amplifikationsgefäß) -Öffnung

12 Probeabgabeablauf (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probe,

Entleeren der Probeflüssigkeit aus der Spitze,

Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze,

Arm 1 fährt zum Wastebehälter,

Abgabe der gebrauchten Spitze,

Arm 1 fährt in Ausgangsposition

13 Arm 2 mit Deckel fährt zur Amplifikationsgefäßöffnung

14 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung,

Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung,

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt in "Stand-by"-Stellung

15 Arm 1 mit Pipettiereinheit fährt von der Ausgangsstellung zur Pipettenspitzenaufnahme und bestückt die Einheit mit einer neuen Pipettenspitze

16 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmeverrichtung fährt von der "Stand-by"-Stellung zum Reagenzgefäß auf der Plattform

17 Öffnungs- und Entnahmeverrichtungsablauf (Arm 2)

Vorrichtung (7) fährt in Ausgangsstellung, Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Dekeloberfläche,

Einführung des Entnahmedorns auf die Deckeloberfläche,

Einführung des Entnahmedorns in das Deckelinere,

Einpressen des Entnahmedorns,

Deckel vom Gefäß entfernen,

Öffnungs- und Entnahmeeinheit mit Deckel vom Gefäß abheben,

Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Gefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Position

18 Arm 1 mit Pipettiereinheit und Pipettenspitze fährt von der Pipettenspitzeaufnahme zum Reagenzgefäß (011) auf der Plattform

19 Reagenzentnahmeablauf (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze (gegebenenfalls Septum durchstechen),

Ansaugen der erforderlichen Flüssigkeitsmenge in die Spitze,

Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Flüssigkeit,

20 Arm 1 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Flüssigkeit fährt neben die Öffnung des Amplifikationsgefäßes in "Stand-by"-Stellung

21 Arm 2 mit Deckel fährt zur Reagenzgefäßöffnung

22 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung, Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung mit der Abstreiferhülse (710),

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt in "Stand-by"-Stellung

23 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmeverrichtung fährt von der "Stand-by"-Stellung zum Amplifikationsgefäß in definierter Position auf der Verbundplatte,

24 Öffnungs- und Entnahmeverrichtungsablauf (Arm 2)

Vorrichtung fährt in Ausgangsstellung,

Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Dekeloberfläche,

Einführung des Entnahmedorns in das Deckelinere,

Einpressen des Entnahmedorns,

Deckel vom Gefäß entfernen,

Öffnungs- und Entnahmeeinheit mit Deckel vom Gefäß abheben,

Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Gefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Stellung.

25 Arm 2 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Flüssigkeit fährt von der "Stand-by"-Stellung zur Amplifikationsgefäßöffnung

26 Reagenzabgabeablauf (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probe,

Entleeren der Reagenzflüssigkeit aus der Spitze, Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze,

Arm 1 fährt zum Wastebehälter,

Abgabe der gebrauchten Spitze,

Arm 1 fährt in Ausgangsposition

27 Arm 2 mit Deckel fährt zur Amplifikationsgefäßöffnung

28 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung,

Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung mit der Abstreiferhülse,

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt in "Stand-by"-Stellung

Die Schritte 15 bis 28 stellen einen Zyklus dar, welcher für jede erneute Zugabe von Reagenzien in das Amplifikationsgefäß durchlaufen werden muß.

Werden 3 Reagenzzugabezyklen vorausgesetzt, wie beim käuflichen Kit der Firma Hoffmann-La Roche (PCR-Puffer, Taq-polymerase, Primer) sind also weitere 28 Schritte zu durchlaufen.

68 Arm 2 mit Pipettiereinheit fährt in die Ausgangsstellung

69 Amplifikationslösung im Gefäß durchläuft ein Temperaturprogramm wie im oben genannten Kit bzw. Thermocycler empfohlen

70 Ende

71 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmeverrichtung fährt von der Ausgangsstellung zum Amplifikationsgefäß in definierter Position auf der Verbundplatte

72 Öffnungs- und Entnahmeverrichtungsablauf (Arm 2)

Vorrichtung fährt in Ausgangsstellung,

Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Dekeloberfläche,

Einführung des Entnahmedorns in das Deckelinere,

Einpressen des Entnahmedorns,

Deckel vom Gefäß entfernen,

Öffnungs- und Entnahmeeinheit mit Deckel vom Gefäß abheben,

Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Gefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Stellung

73 Arm 2 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze fährt von der Ausgangsstellung zur Amplifika-

tionsgefäßöffnung

74 Amplifikationsgemisch (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze,

Ansaugen der gewünschten Flüssigkeitsmenge in die Spitze,

Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Flüssigkeit

75 Arm 1 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Flüssigkeit fährt neben die Öffnung des Amplifikationsgefäßes in "Stand-by"-Stellung

76 Arm 2 mit Deckel fährt zur Amplifikationsöffnung

77 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung, Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung,

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt in "Stand-by"-Stellung

78 Arm 2 mit Öffnungs- und Entnahmevorrichtung fährt von der "Stand-by"-Stellung zur Meßzelle bzw. zu einem Aufbewahrungsgefäß in einer definierten Position auf der Plattform

79 Öffnungs- und Entnahmevorrichtungsablauf (Arm 2)

Vorrichtung fährt in Ausgangsstellung,

Aufsetzen des Entnahmeelementes auf die Deckeloberfläche der Meßzelle bzw. des Aufbewahrungsgefäßes,

Einführung des Entnahmedorns in das Deckelinnere,

Einpressen des Entnahmedorns,

Deckel vom Gefäß entfernen,

Öffnungs- und Entnahmeeinheit mit Deckel vom Gefäß abheben,

Arm 2 mit Deckel fährt aus dem Bereich der Gefäßöffnung neben das Gefäß in "Stand-by"-Stellung

80 Arm 2 mit Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probeflüssigkeit fährt von der "Stand-by"-Stellung zur Meßzelle bzw. Aufbewahrungsöffnung

81 Probeabgabeablauf (Arm 1)

Absenken der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze plus Probe,

Entleeren der Probeflüssigkeit aus der Spitze,

Abheben der Pipettiereinheit mit Pipettenspitze,

Arm 1 fährt zum Wastebehälter,

Abgabe der gebrauchten Spitze,

Arm 1 fährt in Ausgangsposition

82 Arm 2 mit Deckel fährt zur Meßzelle bzw. Aufbewahrungsgefäßöffnung

83 Aufsetzungs- und Verschließungsablauf (Arm 2)

Arm 2 mit Deckel fährt über die Gefäßöffnung,

Absenken des Deckels auf das Gefäß,

Abziehen des Deckels vom Entnahmedorn der Öffnungsvorrichtung,

Gefäß ist mit Deckel verschlossen,

Arm 2 fährt in Ausgangsposition

Ende des Ablaufs

Das Amplifikationsgemisch ist nun zum direkten Nachweis der gebildeten Amplifikate oder zur Durchführung weiterer Reaktionen bereit.

Beispiel 2

Im Folgenden wird unter Hinweis auf FIG 8 - 11 beschrieben, wie mit Hilfe eines Deckelhandlers ein Deckel entnommen bzw. aufgesetzt werden kann.

A) Öffnen des Deckels

Der Deckelhandler muß in der Stellung mit Kugelschreibermechanismus Rastposition A vorliegen.

1.) Aufsetzen des Elementes 2003 (äußere Hülle) auf die Stege des Röhrchens.

2.) Ausübung einer Kraft nach unten bewirkt die Absenkung des Elementes (2006) auf den Deckel bei gleichzeitiger Anspannung der Feder (2004). Jetzt ist ein erster Druckpunkt erreicht.

3.) Ausübung einer größeren Kraft als in Schritt 2.) bewirkt:

a.) der Dorn (700) schiebt sich in die Deckeldornaufnahme.

b.) die Feder (2007) wird zusammengedrückt

c.) der Kugelschreibermechanismus (2005) verkürzt die Distanz II und geht in Rastposition B, wobei Feder (2007) in angespanntem Zustand verbleibt.

Ein zweiter Druckpunkt ist erreicht.

4.) Loslassen des Deckelhandlers (Rücknahme der Kraftausübung nach unten) bewirkt das Abziehen des Deckels vom Tube. Die dazu notwendige Kraft zur Überwindung der Reibung resultiert aus der Entlastung der Feder (2004). Die Kraft wird über Element (2003) und den Dorn (700) auf den Deckel und die Stege des Röhrchens übertragen.

5.) Der Deckelhandler mit dem Deckel kann jetzt abgehoben und entfernt werden.

Der Dorn (700) ist durch die Verkürzung von Distanz II jetzt in das Element (2002) zurückgezogen.

Der Deckel ist nun partiell kontaminationsgeschützt durch Element (2003), ragt jedoch funktionsgemäß 1 - 2 mm über Element (2003) hinaus.

B) Schließen des Deckels

6.) Aufsetzen des Deckelhandlers mit Deckel auf die Öffnung des Röhrchens und Ausübung einer Kraft nach unten gerichtet schiebt den Deckel in die Öffnung des Röhrchens.

7.) Verstärkung der Kraft von 6.) bewirkt das vollständige Einschieben des Deckels und Festklemmen über Reibungskräfte. Die Kraft wird über die Elemente 2005, 2009, 2008, 2010 auf den Dorn (700) übertragen.

Gleichzeitig wird Feder 2004 gespannt.

Ein dritter Druckpunkt ist erreicht.

8.) Verstärkung der Kraft von 7.) schiebt den Dorn (700) aus Element (2006). Gleichzeitig spannt sich Feder (2004) weiter an und gleichzeitig rastet der Kugelschreibermechanismus (2005) wieder in die ursprüngliche Rastposition A zurück und verlängert Distanz II.

9.) Reduzieren der Kraft nach unten (= Loslassen) schiebt den Deckelhandler vollständig nach oben, wobei die gespannte Feder (2004) über Element (2003) das Röhrchen nieder hält. Die Feder entspannt sich bei diesem Prozeß und der Deckelhandler steht für einen weiteren Öffnungsprozeß bereit.

Bezugszeichenliste

| | | |
|------|-----------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Reaktionsgefäß | 30 |
| 101 | Innenwand des Reaktionsgefäßes | |
| 102 | Widerhaken | |
| 2 | Halteplatte | |
| 3 | Löcher in der Halteplatte | 35 |
| 4 | Thermoblock | |
| 5 | Deckel | |
| 500 | Aus dem Reaktionsgefäß hinausragender Teil des Reaktionsgefäßes | 40 |
| 501 | Anschlag | |
| 503 | Oberfläche des Deckels | |
| 550 | In die Öffnung des Reaktionsgefäßes hineinragender Teil | |
| 551 | Mittel zur Entfernung des Deckels | 45 |
| 552 | Dichtwulst | |
| 553 | Zwischenraum | |
| 554 | Auf die Innenwand 101 gerichtete Außenoberfläche des Deckels | 50 |
| 555 | Septum | |
| 7 | Öffnungsvorrichtung/Entnahmevorrichtung | |
| 700 | Entnahmedorn | 55 |
| 701 | Entnahmewulst | |
| 710 | Abstreiferhülse | |
| 2100 | Entnahmevorrichtung | |

| | |
|---------------|--------------------------------------------------|
| 2101 | Druckstück |
| 2102 | Rasthülse |
| 2103 | Rastelement |
| 2105 | Druckstift |
| 2106 | Abdrückfeder |
| 2001 | Aufnahme |
| 2002 | Hülse |
| 2003 | Gegenhalter |
| 2004 | Rastfeder |
| 2005 | Kreuzschlitzschraube (Kugelschreibermechanismus) |
| 2006 | Abstreiferhülse |
| 2007 | Feder |
| 2008 | Schubelement |
| 2009 | Schubelement |
| 2010 | Schubelement |
| 010 | Verbundplatte mit Reaktionsgefäßen und Deckeln |
| 011, 012, 013 | Reagenzvorratsgefäße |
| 014, 015, 016 | Probengefäße |
| 017 | Pipettiereinheit |
| 018 | Zahnstange |
| 8 | Schraubdeckel |
| 801 | Schraubgewinde |
| 802 | Entnahmeöffnung des Schraubdeckels |
| 9 | Pipette |

Patentansprüche

1. System zur automatischen Durchführung von Reaktionen in Reaktionsgefäßen, enthaltend:
 - mehrere Reaktionsgefäße
 - mehrere Reagenzvorratsgefäße
 - mehrere Probengefäße
 - Einzelverschlüsse für mehrere dieser Gefäße und
 - eine Vorrichtung zum automatischen Öffnen der Einzelverschlüsse.
2. System gemäß Anspruch 1, weiterhin enthaltend eine automatische Pipettiereinrichtung.
3. System gemäß Anspruch 1 oder 2, weiterhin enthaltend eine Einrichtung zur Regulierung der Temperatur von in den Reaktionsgefäßen enthaltenden Flüssigkeiten.
4. Deckel für ein Gefäß, welcher einen in eine Öffnung des Gefäßes hineinragenden Teil aufweist, dadurch gekennzeichnet, daß der hineinragende Teil Mittel zur Entfernung des Deckel von dem Gefäß aufweist.
5. Deckel gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Deckel einen Dichtwulst zum Verschließen des Zwischenraums zwischen Deckel und Gefäß aufweist.

6. Deckel gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen den Mitteln zur Entfernung des Deckels und dem Dichtwulst ein Zwischenraum vorgesehen ist.
7. Deckel gemäß einem der Ansprüche 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der herausragende Teil eine flache Oberfläche aufweist.
8. Deckel gemäß Anspruch 4 für ein Reaktionsgefäß
9. Deckel gemäß Anspruch 4 für ein Reagenzvorratsgefäß.
10. Deckel gemäß Anspruch 9, wobei das Reagenzvorratsgefäß mittels eines Schraubverschlusses verschlossen ist.
11. Deckel gemäß Anspruch 4 für ein Probengefäß.
12. Verfahren zur automatischen Durchführung chemischer Reaktionen in mehreren Reaktionsgefäßen, gekennzeichnet durch die Schritte
- Zur Verfügungstellen von Reaktionsmischungen in Reaktionsgefäßen,
 - Verschuß der Reaktionsgefäße durch Einzelverschlüsse und
 - automatisches Öffnen der Einzelverschlüsse mittels einer Vorrichtung zur Entfernung der Verschlüsse von den Reaktionsgefäßen.
13. Verfahren zur automatischen Durchführung chemischer Reaktionen mit Hilfe mehrerer Reagenzvorratsgefäße, gekennzeichnet durch die Schritte
- Zur Verfügungstellen von Reagenzflüssigkeiten in Reagenzvorratsgefäßen, die durch Einzelverschlüsse verschlossen sind und
 - automatisches Öffnen eines Einzelverschlusses mittels einer Vorrichtung zur Entfernung der Verschlüsse von den Reagenzvorratsgefäßen,
 - Entnahme von Reagenzflüssigkeit
 - automatischer Wiederverschuß des Reagenzvorratsgefäßes durch einen Einzelverschuß.
14. Verfahren zur automatischen Durchführung chemischer Analysen in Probenflüssigkeiten aus mehreren Probengefäßen, gekennzeichnet durch die Schritte
- Zur Verfügungstellen von Probenflüssigkeiten in Probengefäßen, welche durch Einzelverschlüsse verschlossen sind und
- automatisches Öffnen eines Einzelverschlusses mittels einer Vorrichtung zur Entfernung des Verschlusses von einem Probengefäß.
15. Vorrichtung zur Bearbeitung einer Flüssigkeit, die sich in einem verschlossenen oder verschließbaren Gefäß befindet, enthaltend
- eine Vorrichtung zum Pipettieren der Flüssigkeit und
 - eine Vorrichtung zum Entfernen oder/und Anbringen eines Verschlusses des Gefäßes.
16. Vorrichtung zum Ergreifen eines Gefäßdeckels, enthaltend
- ein Bauteil (700), welches in den Innenraum des Deckels eingreift und sich in diesem festklemmt, und
 - ein Bauteil (710), mit dem der ergriffene Deckel von dem Bauteil, welches in diesem festgeklemmt ist, abgestreift werden kann.

FIG 1

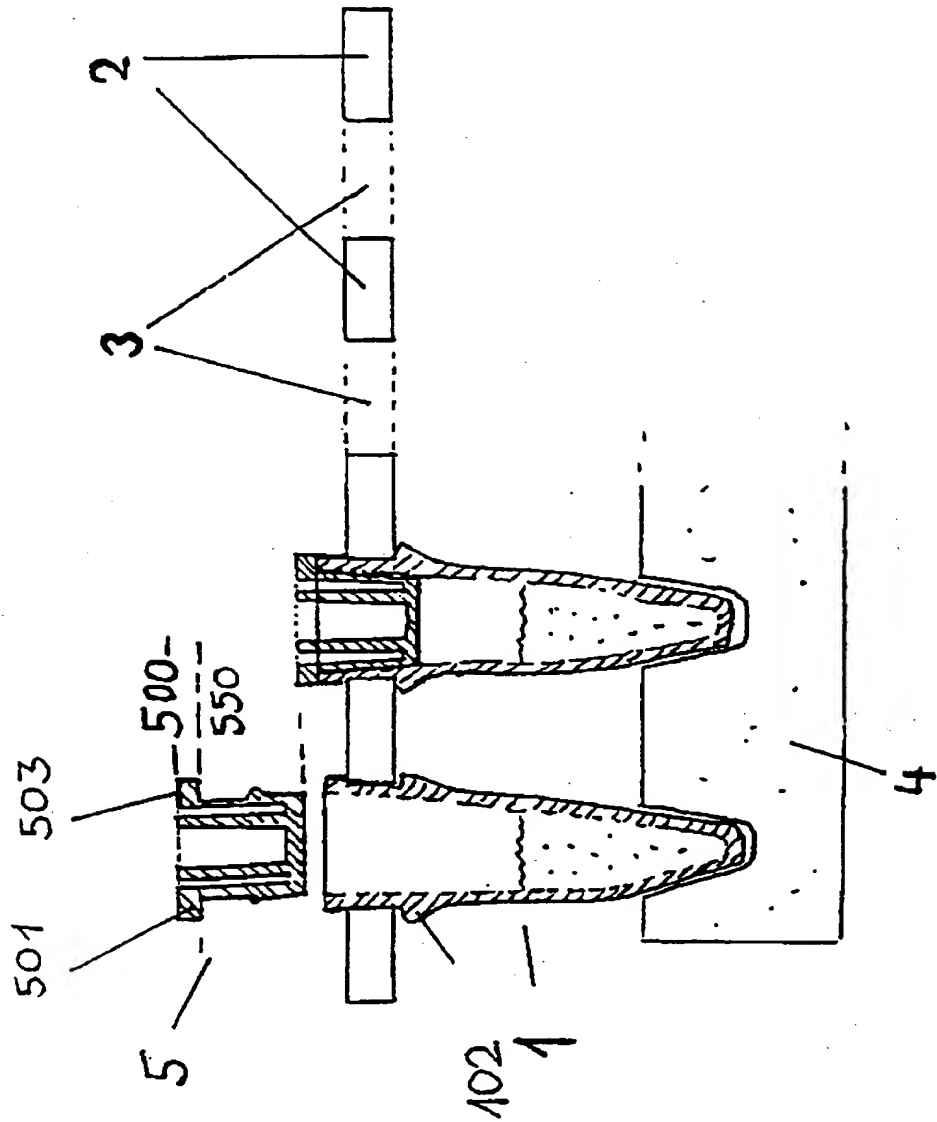


FIG 2

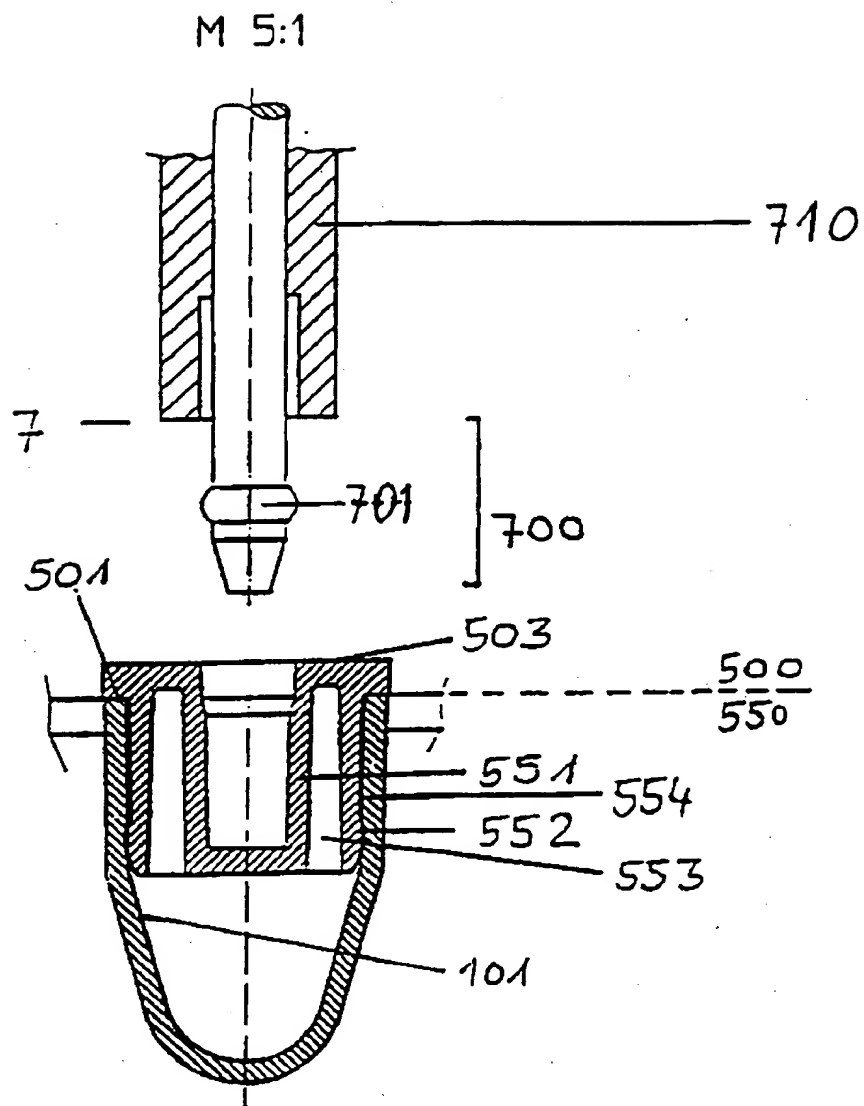


FIG 3

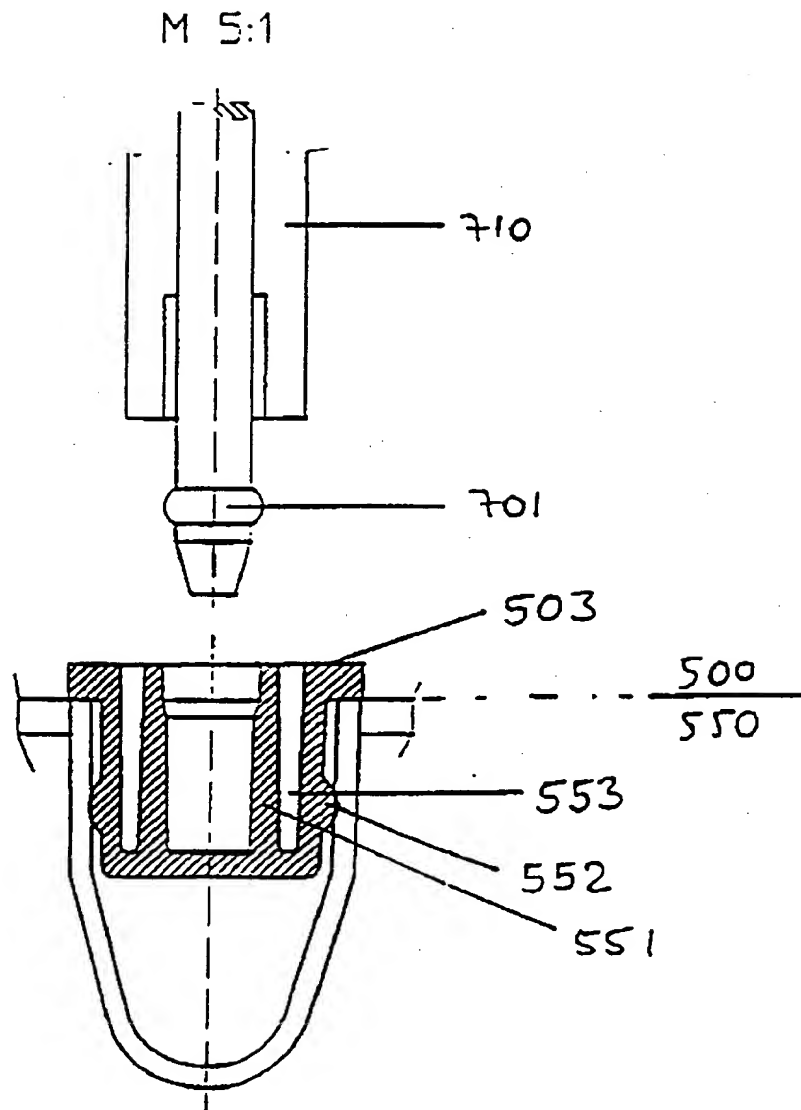


FIG 4

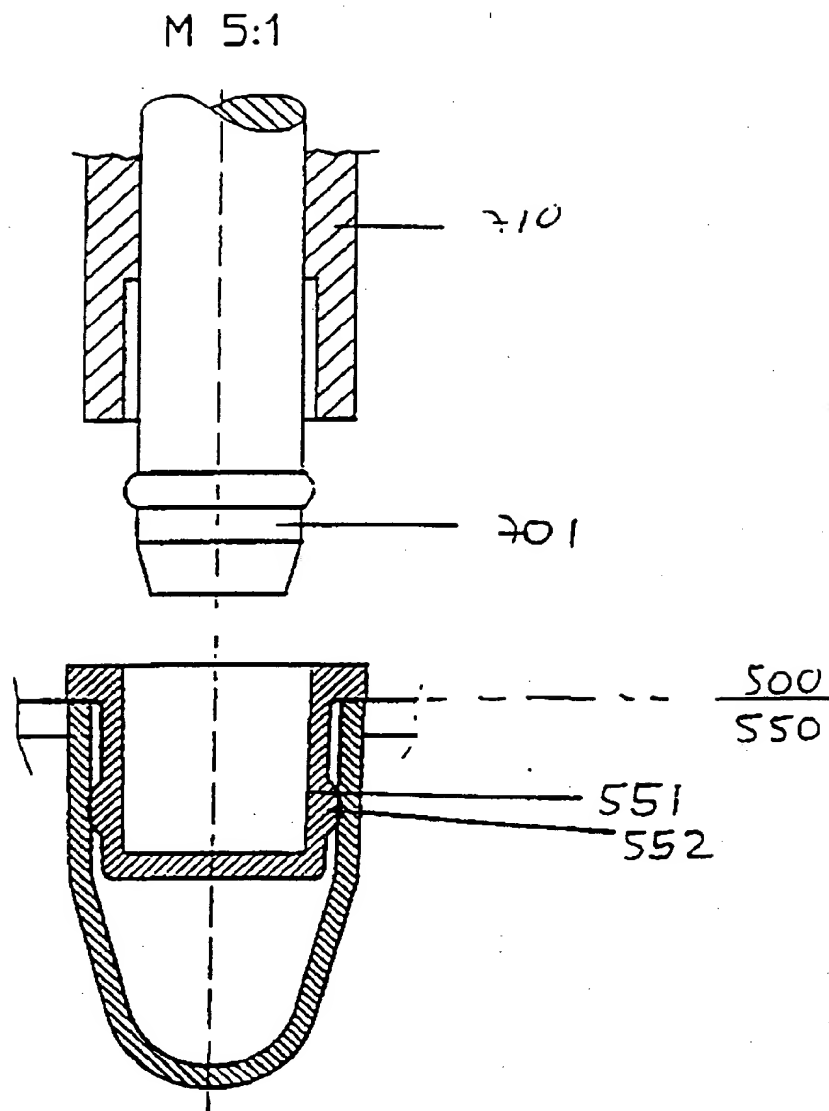


FIG 5

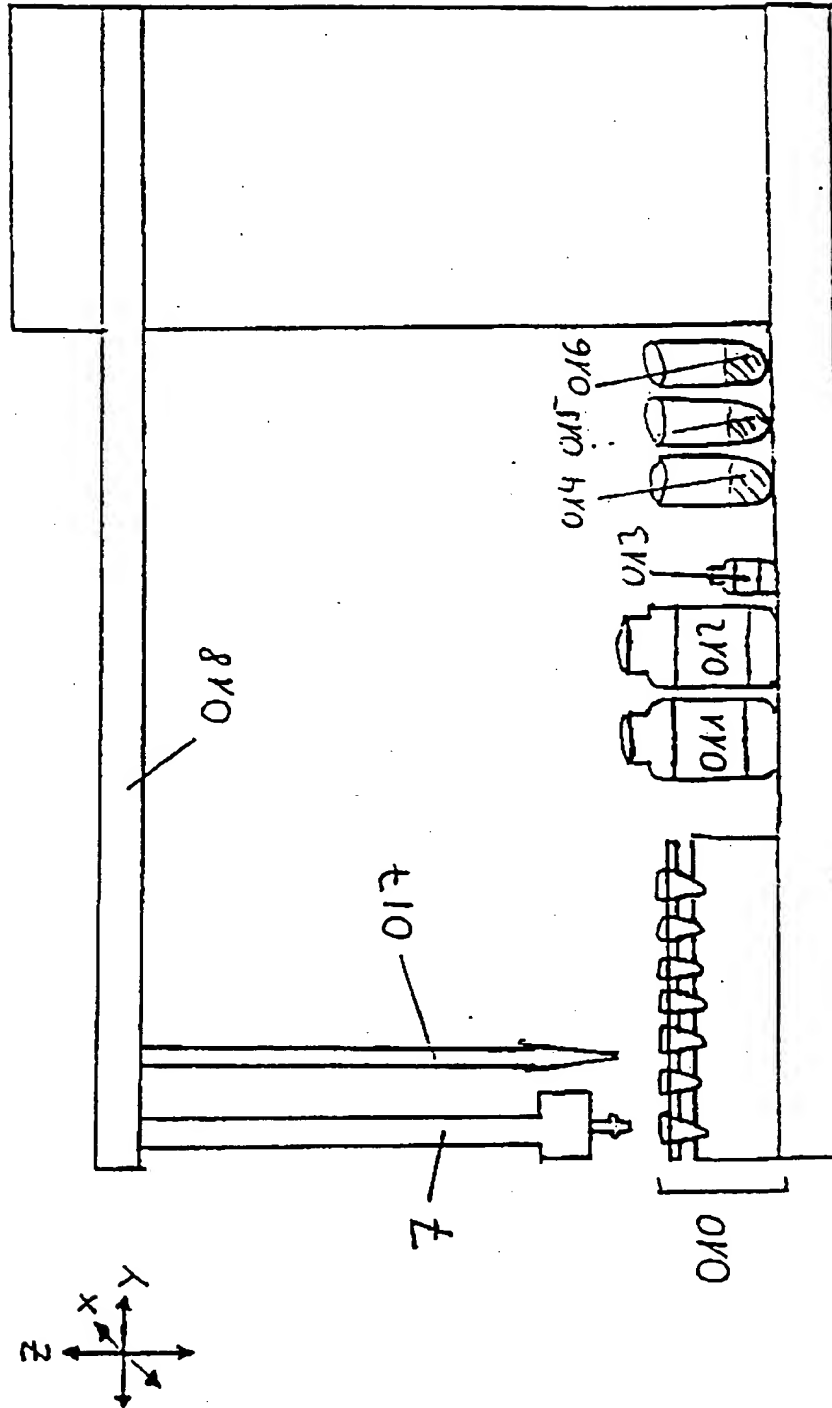


FIG 6

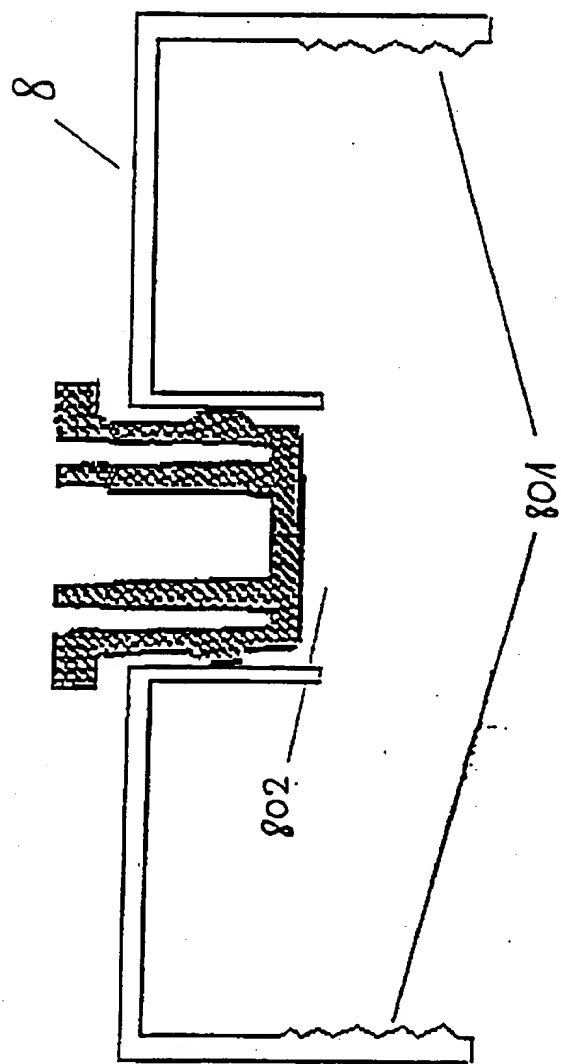
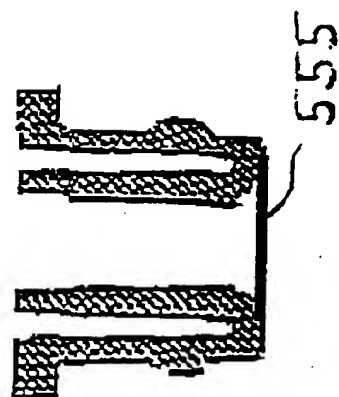


FIG 7



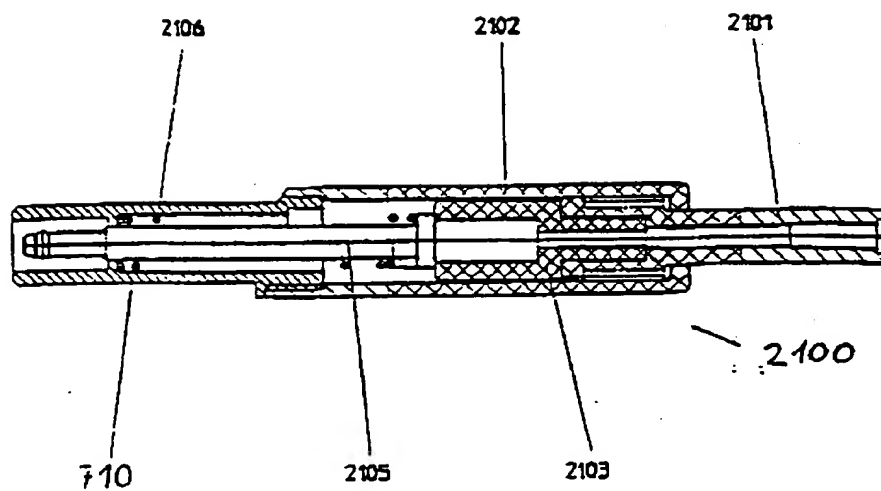


FIG 8

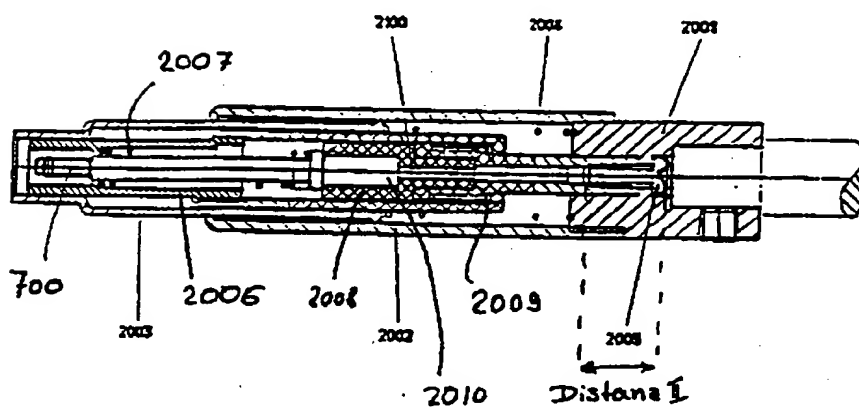


FIG 9

FIG 10

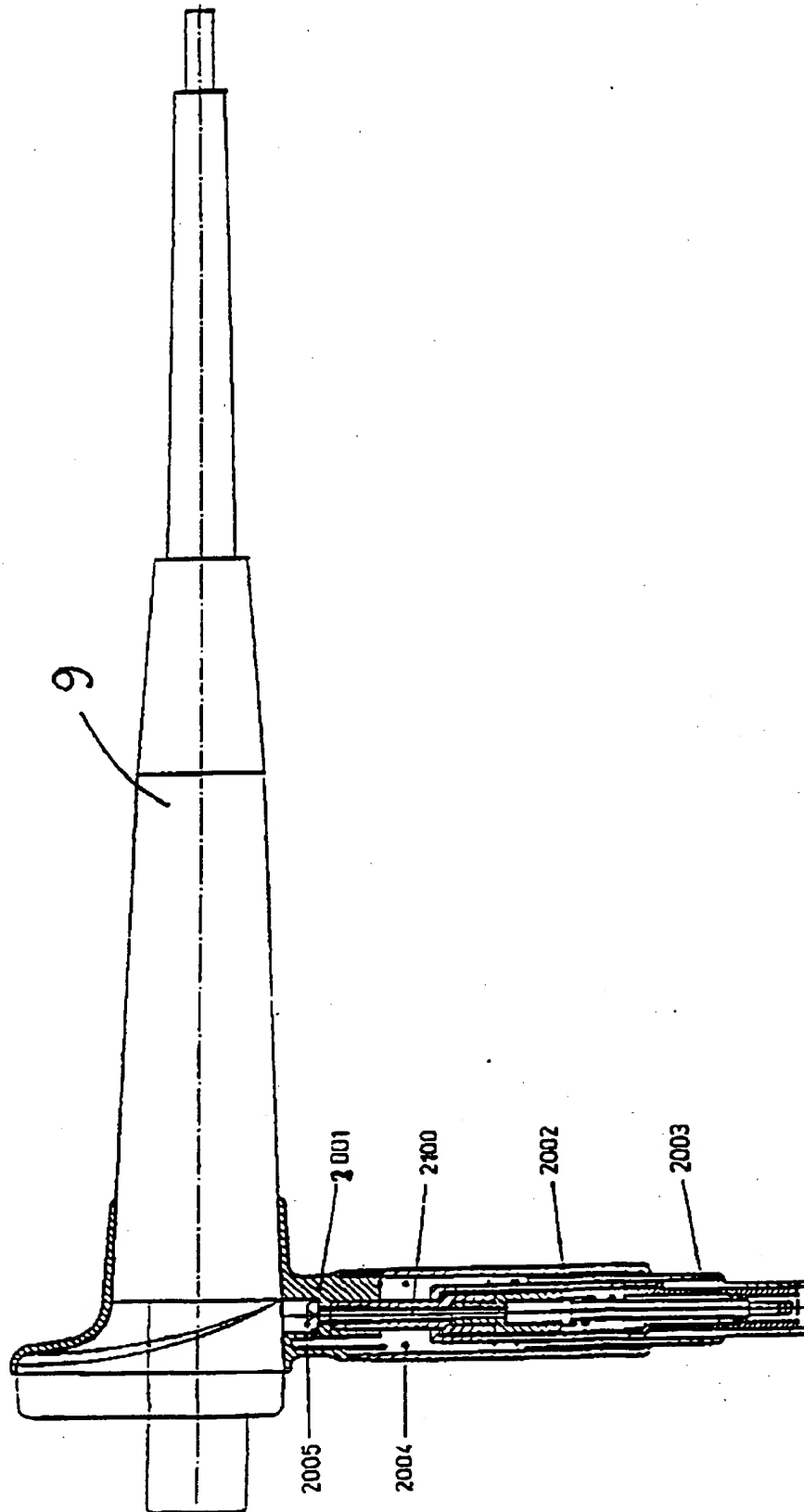
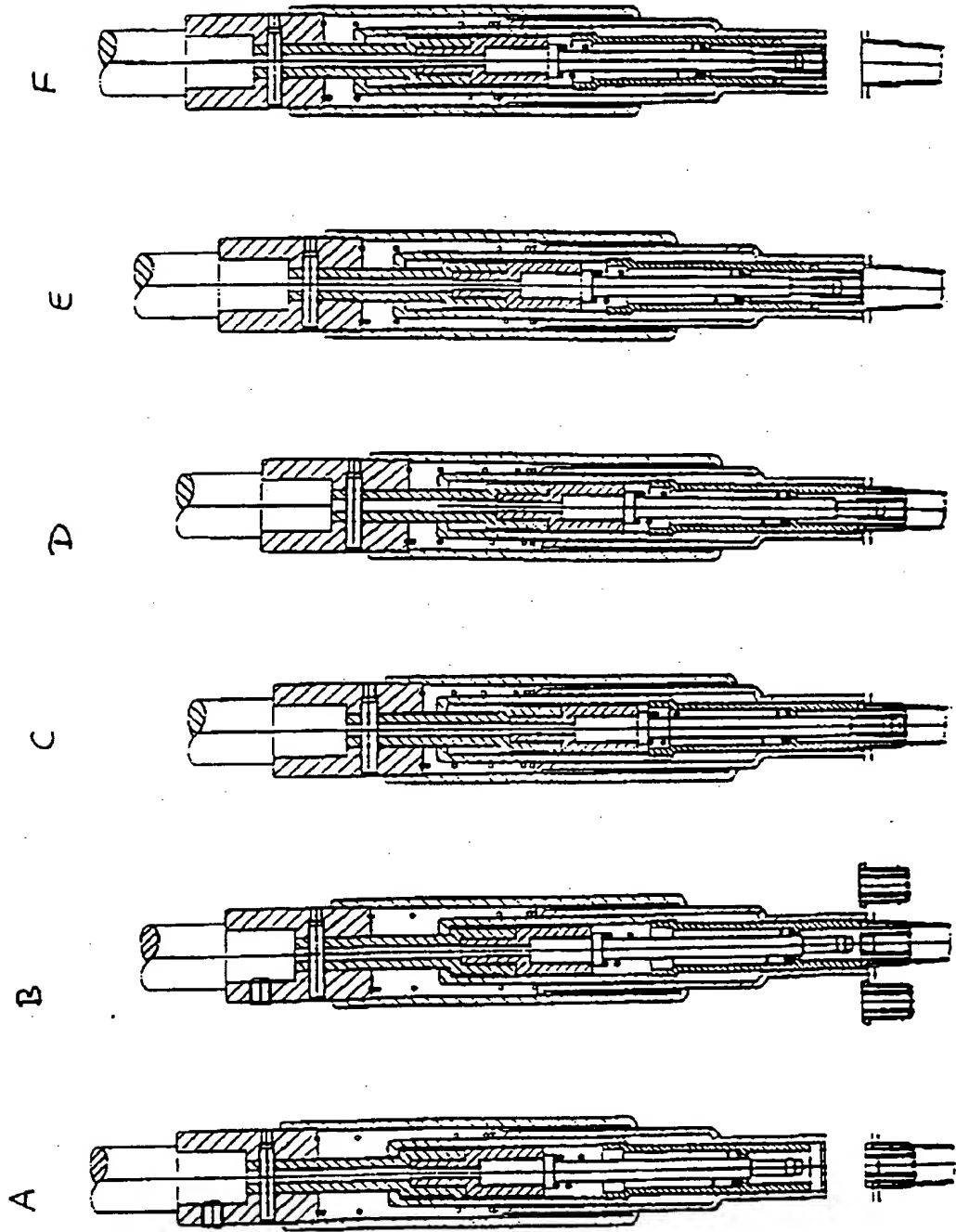


FIG 11





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 10 5182

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6) |
| X | EP-A-0 557 828 (HORIBA LTD) 1.September 1993 * Spalte 4, Zeile 29 - Spalte 18, Zeile 41; Abbildungen 1,2 * | 1-3, 12-15 | G01N35/00 B01L3/14 |
| A | --- CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS, Bd. 17, Nr. 1, Oktober 1992 AMSTERDAM NL, Seiten 15-45, LINDSEY JS 'A retrospective on the automation of laboratory synthetic chemistry' * Seite 27, rechte Spalte, Absatz 2; Abbildung 10 * | 1 | |
| X | FR-A-1 407 571 (HELVADJIAN A) 26.November 1965 | 4,6,7 | |
| Y | * das ganze Dokument * | 16 | |
| Y | --- FR-A-1 424 765 (CROWN CORK CO) 30.März 1966 * Anspruch 1; Abbildungen 1-4 * | 16 | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6) G01N B01L B67B |
| X | --- EP-A-0 076 772 (SEPARATION SCIENCE CORP) 13.April 1983 * Seite 5, Zeile 12 - Zeile 33; Abbildungen * | 4,5,11 | |
| X | --- EP-A-0 065 926 (DESTHIEUX JOANNES) 1.Dezember 1982 * Abbildungen 5-8 * | 4,5,7 16 | |
| A | --- EP-A-0 487 492 (ART BICKFORD & CO) 27.Mai 1992 * Abbildungen 4-6 * | 16 | |
| -/-- | | | |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| Recherchenamt DEN HAAG | | Abschlußdatum der Recherche 21.Dezember 1995 | Prüfer Bindon, C |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund U : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patendokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument * : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |

EP 0 676 643 A3 (1995)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 10 5182

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6) |
| A | FR-A-1 452 206 (COMPAGNIE DE SAINT-GOBAIN) 14.Dezember 1966 * Abbildungen * | 16 | |
| | | | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6) |
| <p>Das vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt</p> | | | |
| <p>Recherchenort</p> <p>DEN HAAG</p> | | <p>Abschlußdatum der Recherche</p> <p>21.Dezember 1995</p> | <p>Prüfer</p> <p>Bindon, C</p> |
| <p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung F : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p> | | | |

EPF FORM 150 (02/1990)